

DOI: <https://doi.org/10.17816/dv633413>

Оригинальное исследование



Оценка уровня экспрессии miR-338-3p в диагностике аутоиммунной пузырчатки

Н.П. Теплюк¹, Д.В. Мак¹, Ю.В. Колесова¹, А.А. Лепехова¹, Т.А. Федотчева², Д.Н. Ульченко²¹ Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия;² Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Аутоиммунная пузырчатка — группа потенциально смертельных хронических дерматозов, при которых возникают пузыри на коже и слизистых оболочках в результате фиксации аутоантител класса IgG на десмосомах в эпидермисе, акантолиза кератиноцитов. В настоящее время ведётся поиск методов контроля активности и терапии заболевания с помощью различных биомаркеров. Одним из таких направлений стало изучение экспрессии микроРНК, в частности miR-338-3p, поскольку изменение её экспрессии может быть пусковым фактором в дисбалансе Th1/Th2 клеток и, следовательно, играть роль в патогенезе заболевания.

Цель исследования — разработать технологию оценки уровня экспрессии miR-338-3p в мононуклеарных клетках периферической крови и оценить диагностическую ценность экспрессии miR-338-3p при аутоиммунной пузырчатке.

Материалы и методы. Экспериментальное проспективное сравнительное исследование проводилось в период с февраля 2023 по февраль 2024 года. В исследование включены 10 пациентов с аутоиммунной пузырчаткой в активной стадии заболевания (5 мужчин, 50%; 5 женщин, 50%; средний возраст $46 \pm 10,7$ года), 3 пациента в стадии ремиссии (2 женщины, 66,7%; 1 мужчина, 33,3%; средний возраст 57 ± 8 лет) и 9 участников группы контроля (8 женщин, 88,9%; 1 мужчина, 11,1%; средний возраст $36 \pm 16,8$ года). Изучение экспрессии miRNA-338-3p проводили с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, кДНК получали на основе технологии StemLoop. Оценка уровня экспрессии miRNA-338-3p основывалась на её сравнении с экспрессией малой ядерной РНК U6.

Результаты. Средний уровень экспрессии miR-338-3p у пациентов в активной стадии заболевания составил $8,64$ ($SD \pm 5,72$), в ремиссии — $3,38$ ($SD \pm 1,44$), в группе контроля — $1,48$ ($SD \pm 1,12$). Выявлено статистически значимое повышение уровня экспрессии miR-338-3p у пациентов в активной стадии заболевания по сравнению с группой контроля ($p=0,002$). Установлена статистически значимая связь между уровнем экспрессии miR-338-3p и величиной значения индекса площади поражения при пузырчатке PDAI ($p < 0,001$).

Заключение. По результатам проведённого исследования можно сделать вывод о значимости микроРНК при аутоиммунной пузырчатке, а экспрессия miR-338-3p, в частности, может служить ключевым элементом в патогенезе данного заболевания. Более детальное изучение микроРНК и анализ вариабельности экспрессии в зависимости от клинических данных может стать основой для создания новых диагностических методов, а также оценки степени тяжести, что позволит применять более точные и менее инвазивные методы диагностики, а также контролировать и прогнозировать течение заболевания.

Ключевые слова: микроРНК; буллёзные дерматозы; вульгарная пузырчатка; листовидная пузырчатка.

Как цитировать:

Теплюк Н.П., Мак Д.В., Колесова Ю.В., Лепехова А.А., Федотчева Т.А., Ульченко Д.Н. Оценка уровня экспрессии miR-338-3p в диагностике аутоиммунной пузырчатки // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2024. Т. 27, № 4. С. 448–462. DOI: <https://doi.org/10.17816/dv633413>

DOI: <https://doi.org/10.17816/dv633413>

Original study article

The miR-338-3p expression level in pemphigus diagnosis

Natalia P. Teplyuk¹, Daria V. Mak¹, Yuliya V. Kolesova¹, Anfisa A. Lepekhova¹,
Tatiana A. Fedotcheva², Darya N. Ulchenko²¹ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;² The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: Pemphigus is a group of potentially fatal chronic cutaneous diseases in which blisters appear on the skin and mucous membranes as a result of IgG autoantibodies binding to desmosomes in the epidermis, leading to keratinocytes acantholysis. Currently, methods to monitor disease activity and therapy efficiency using various biomarkers are being investigated. MicroRNA expression, in particular miR-338-3p, has been one of these biomarkers, as changes in miR-338-3p expression may trigger the Th1/Th2 cell imbalance and possibly be involved in the pathogenesis of the disease.

AIM: This study aimed to design a protocol to evaluate the level of miR-338-3p expression in peripheral blood mononuclear cells and verify the diagnostic value of miR-338-3p expression in pemphigus.

MATERIALS AND METHODS: Experimental prospective comparative study was conducted from February 2023 to February 2024 at the Dermatology Department of Sechenov University. The study included 10 patients with pemphigus in the active stage of the disease, 3 patients in remission, and 9 participants of the control group. The expression of miRNA-338-3p was analyzed by real-time polymerase chain reaction, cDNA was obtained using StemLoop method. The evaluation of miRNA-338-3p expression level was based on its comparison with the expression of U6 gene using 2- $\Delta\Delta C_t$ method.

RESULTS: The expression level of miR-338-3p was analyzed in 10 patients in the active stage of the disease (5 men, 50%; 5 women, 50%; mean age 46 \pm 10.7 years), 3 patients in remission (2 women, 66.7%; 1 man, 33.3%; mean age 57 \pm 8 years), 9 control group (8 women, 88.9%; 1 man, 11.1%; mean age 36 \pm 16.8 years). The mean expression level of miR-338-3p was 8.64 (SD \pm 5.72) in patients with active disease, 3.38 (SD \pm 1.44) in patients in remission, and 1.48 (SD \pm 1.12) in controls. A statistically significant increase in the expression level of miR-338-3p was found in patients in the active disease stage compared to the control group ($p=0.002$). A statistically significant correlation was found between the level of miR-338-3p expression and the PDAI index score ($p<0.001$).

CONCLUSION: Based on the data obtained in this study, it can be assumed that microRNAs are important in pemphigus, and miR-338-3p expression in particular may serve as a key element in pemphigus pathogenesis. More detailed study of microRNAs and analysis of expression variability according to clinical data may provide the basis for developing new diagnostic methods and severity scoring, allowing more accurate and less invasive diagnostic methods, as well as monitoring and predicting disease progression.

Keywords: microRNAs; bullous dermatoses; pemphigus vulgaris; pemphigus foliaceus.

To cite this article:

Teplyuk NP, Mak DV, Kolesova YuV, Lepekhova AA, Fedotcheva TA, Ulchenko DN. The miR-338-3p expression level in pemphigus diagnosis. *Russian journal of skin and venereal diseases*. 2024;27(4):448–462. DOI: <https://doi.org/10.17816/dv633413>

Submitted: 12.06.2024

Accepted: 31.07.2024

Published online: 25.08.2024

ОБОСНОВАНИЕ

Аутоиммунная пузырчатка представляет собой группу редких и потенциально смертельных хронических дерматозов. В результате фиксации аутоантител к десмоглеину 3 и/или 1 (Dsg3, Dsg1) в эпидермисе при аутоиммунной пузырчатке происходит образование внутриэпидермальных полостей за счёт акантолиза кератиноцитов, что клинически проявляется возникновением пузырей на коже и слизистых оболочках [1].

Распространённость аутоиммунной пузырчатки сильно варьирует в зависимости от географического региона: чаще всего заболевание встречается на Индийском субконтиненте, в Средиземноморском регионе и на Ближнем Востоке. Заболеваемость аутоиммунной пузырчаткой в России составляет 1,9 случая на 100 000 населения в год [2]. Наиболее часто встречающиеся виды аутоиммунной пузырчатки — вульгарная и листовидная, на долю которых приходится 90–95% всех вариантов заболевания [3]. Вульгарная пузырчатка является наиболее распространённым типом аутоиммунной пузырчатки и составляет до 65% всех случаев [4, 5]. Среди пациентов преобладают женщины, соотношение мужчин и женщин составляет от 1:1,7 до 1:1,1 [1–5]. Почти во всех случаях вульгарной пузырчатки в течение болезни развиваются поражения слизистой оболочки полости рта, при этом более чем в 50–70% случаев манифестация происходит именно при этой локализации [6, 7]. Листовидная пузырчатка — второй по частоте встречаемости вид аутоиммунной пузырчатки: её распространённость составляет до 27% всех случаев [8].

В связи с редкостью заболевания и зачастую длительным дифференциально-диагностическим поиском от момента манифестации до постановки диагноза может пройти несколько недель и даже месяцев, что приводит к отсрочке патогенетической терапии и утяжелению течения болезни [9–14]. Стандартом диагностики аутоиммунной пузырчатки являются наличие характерной клинической картины, гистологическое исследование, а также проведение прямой и непрямой реакции иммунофлюоресценции (РИФ) и/или иммуноферментного анализа (ИФА; enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), однако наличие ложноположительных и ложноотрицательных результатов при гистологическом и иммуногистохимическом исследовании по-прежнему делает актуальной проблему поиска новых диагностических методов [15].

В настоящее время проводится широкий спектр исследований для поиска методов контроля активности заболевания с помощью различных биомаркеров, которые могут быть использованы для мониторинга прогрессирования аутоиммунной пузырчатки и прогноза ответа на терапию, что позволит оптимизировать выбор персонализированной терапии [16]. Особенно перспективной считалась оценка тяжести аутоиммунной пузырчатки

по уровню титра аутоантител к Dsg1 и Dsg3, однако теория показала свою неэффективность, поскольку титр антител может оставаться высоким и при клинической ремиссии [17, 18]. В последние годы в качестве метода диагностики и прогнозирования исходов заболеваний активно изучаются микроРНК [19].

МикроРНК — это некодирующие РНК длиной около 22 нуклеотидов, которые контролируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне [20]. Согласно последним данным, в геноме человека насчитывается 2675 зрелых микроРНК, которые служат потенциальным регулятором более 60% кодирующих генов [21, 22]. МикроРНК связываются с целевыми мессенджерными РНК (мРНК), вызывая деградацию или трансляционную супрессию мРНК и впоследствии регулируют различные биологические процессы, включая апоптоз, дифференцировку клеток, межклеточные коммуникации и реакции иммунного ответа [23]. Дисрегуляция микроРНК играет важную роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний, способствуя аутореактивности Т-клеток, активируя воспалительные пути и продукцию цитокинов, а также регулируя активацию В-клеток и индуцируя апоптоз [24–26].

Результаты исследований последних лет указывают на то, что класс регуляторных биомолекул микроРНК благодаря тканеспецифичной экспрессии, а также способности быстро выходить из клеток и оставаться стабильными в биологических жидкостях могут превосходить по чувствительности и специфичности существующие биомаркеры [27], однако публикаций, посвящённых изучению экспрессии микроРНК в контексте аутоиммунной пузырчатки, на данный момент ограниченное количество (табл. 1) [28–34].

В опубликованных на сегодняшний день работах была проанализирована экспрессия суммарно более 170 микроРНК (см. табл. 1), при этом особое значение было уделено miR-338-3p, поскольку экспериментально установлено, что данная микроРНК подавляет продукцию интерферона-гамма и повышает уровень интерлейкинов (interleukin, IL) 4 и 10 [31]. Следовательно, изменённая экспрессия miR-338-3p может быть пусковым фактором в дисбалансе Th1/Th2 клеток, который лежит в основе теории патогенеза аутоиммунной пузырчатки [35–37].

Эффективным методом для количественного определения относительных и абсолютных уровней микроРНК в биологических образцах является полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ПЦР-РВ), так как метод обладает высокой точностью и чувствительностью [38], однако на сегодняшний день между исследованиями наблюдается большая вариабельность в отношении количества анализируемых микроРНК (от 1 до 124), вариантов модификации ПЦР и детекции результатов методом ПЦР-РВ. Открытым остаётся также вопрос выбора субстратов для проведения исследования (плазма крови, мононуклеарные клетки, экзосомы, биоптаты кожи), а также выбора внутреннего контроля для анализа

Таблица 1. Сравнение публикаций по изучению экспрессии микроРНК при аутоиммунной пузырчатке**Table 1.** Comparison of studies on microRNA expression in pemphigus

Публикация Publication	Фенотип Phenotype	Общее число изученных микроРНК Total number of microRNAs studied	Ключевые микроРНК Key miRNAs	Субстрат Substrate	Метод детекции Detection method	Внутренний контроль Internal control
Valentino и соавт., 2023 [28]	ВП	86	hsa-miR-148a-3p hsa-miR-146b-5p hsa-miR-126 hsa-miR-139	Экзосомы, полученные из плазмы крови	ПЦР-РВ TaqMan	U6
Khabou и соавт., 2023 [29]	ЛП	6	hsa-miR-17-5p hsa-miR-21-5 hsa-miR-146a-5p hsa-miR-155-5p hsa-miR-338-3p hsa-miR-21	Мононуклеарные клетки периферической крови/ биоптаты кожи	ПЦР-РВ*	*
He и соавт., 2022 [30]	ВП	12	hsa-miR-125b-5p hsa-miR-146a-5p hsa-miR-148a-3p hsa-miR-150-5p hsa-miR-155-5p hsa-miR-181a-5p hsa-miR181b-5p hsa-miR-326 hsa-miR-338-3p hsa-miR-423-5p hsa-miR-424-5p hsa-miR-584-5p	Плазма крови	ПЦР-РВ SYBR Green I	5S рРНК
Xu и соавт., 2020 [31]	ВП	1	hsa-miR-338-3p	Мононуклеарные клетки периферической крови	ПЦР-РВ SYBR Green I	U6
Lin и соавт., 2018 [32]	ВП	1	hsa-miR-338-3p	Мононуклеарные клетки периферической крови	ПЦР-РВ SYBR Green I	U6
Liu и соавт., 2018 [33]	ВП	1	hsa-miR-338-3p	Мононуклеарные клетки периферической крови	ПЦР-РВ SYBR Green I	18srRNA
Wang и соавт., 2017 [34]	ВП	124	hsa-miR-424-5p	Мононуклеарные клетки периферической крови	ПЦР-РВ SYBR Green I	U6

Примечание. * Подробная информация о методе не доступна. ВП — вульгарная пузырчатка; ЛП — листовидная пузырчатка; ПЦР-РВ — полимеразная цепная реакция в режиме реального времени.

Note. * Detailed information on the method is not available. ВП — pemphigus vulgaris; ЛП — pemphigus foliaceus; ПЦР-РВ — real-time polymerase chain reaction.

экспрессии (см. табл. 1). Таким образом, можно сделать вывод об отсутствии стандарта протокола для оценки уровня экспрессии микроРНК при аутоиммунной пузырчатке.

Цель исследования — разработать технологию оценки уровня экспрессии miR-338-3p в мононуклеарных клетках периферической крови и оценить диагностическую ценность экспрессии miR-338-3p для аутоиммунной пузырчатки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Экспериментальное проспективное сравнительное.

Критерии соответствия

Критерии включения: лица обоих полов; впервые или ранее установленные диагнозы «Вульгарная пузырчатка» или «Листовидная пузырчатка»; возраст пациентов от 18 лет; добровольное желание пациента и наличие подписанного информированного согласия на участие в исследовании; согласие на обработку персональных данных.

Критерии включения в группу контроля: лица обоих полов; возраст от 18 лет; желание добровольца и наличие подписанного информированного согласия на участие в исследовании; согласие на обработку персональных данных.

Критерии невключения: несоответствие критериям включения; наличие тяжёлых сопутствующих или других

аутоиммунных заболеваний в анамнезе; беременность и период лактации; отказ пациента от участия в исследовании.

Критерии не включения в группу контроля: несоответствие критериям включения; наличие тяжёлых сопутствующих или других аутоиммунных заболеваний в анамнезе; нежелание добровольца участвовать в исследовании.

Критерии исключения: желание пациента прекратить участие в исследовании.

Критерии исключения для группы контроля: желание добровольца прекратить участие в исследовании.

Условия проведения

Исследование проводилось на базе Клиники кожных и венерических болезней имени В.А. Рахманова ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России. Все пациенты подписали информированное добровольное согласие перед включением в исследование и согласие на обработку персональных данных. Исследуемый материал (кровь) транспортировался при температуре 4°C в лабораторию при кафедре молекулярной фармакологии и радиобиологии имени академика П.В. Сергеева медико-биологического факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России.

Продолжительность исследования

Исследование проводилось в период с февраля 2023 по февраль 2024 года.

Описание медицинского вмешательства

В исследование включены 10 пациентов с диагнозом аутоиммунной пузырчатки в активной стадии заболевания, из них 6 с вульгарной формой, 4 — с листовидной, и 3 пациента с диагнозом вульгарной пузырчатки в стадии ремиссии (более 2 лет), получающих поддерживающую дозу системных глюкокортикоидов (10 мг). Оценка степени тяжести заболевания проводилась с помощью индекса площади поражения при пузырчатке (pemphigus disease area index, PDAI). Характеристики пациентов представлены в табл. 2. Группа контроля включала 9 условно здоровых добровольцев.

Диагноз аутоиммунной пузырчатки устанавливался на основании клинической картины, данных анамнеза пациента, наличия антител в сыворотке крови к Dsg1 и Dsg3, результатов гистологического исследования (интраэпидермальный, супрабазальный акантолиз с образованием щелевидных полостей, содержащих акантолитические клетки) и реакции прямой иммунофлюоресценции (фиксация IgG и C3 компонента комплемента на уровне межклеточных связей клеток шиповатого слоя эпидермиса).

После подтверждения диагноза пациенты находились на стационарном лечении в дерматовенерологическом отделении Клиники кожных и венерических болезней имени В.А. Рахманова Сеченовского Университета. При госпитализации в стационар у пациентов производился отбор периферической венозной крови в пробирки с аэрозольным покрытием антикоагулянтом ЭДТА К2. В течение не более 5 часов после взятия образца крови происходило выделение мононуклеарных клеток периферической крови с помощью центрифугирования в градиенте плотности

Таблица 2. Клиническая характеристика пациентов с аутоиммунной пузырчаткой в активной стадии заболевания

Table 2. Clinical characteristic of patients with pemphigus in active stage of the disease

Номер пациента Patient number	Пол Gender	Возраст, лет Age, years	Диагноз Diagnosis	Наличие высыпаний на коже/слизистых оболочках Presence of rashes on the skin/mucous membranes	Доза ГКС, мг Glucocorticoid dose, mg	PDAI	Степень тяжести Disease severity
1	М	53	ВП	Кожа/слизистые	0	66	Тяжёлая
2	М	52	ЛП	Кожа	0	22	Средняя
3	М	36	ВП	Кожа/слизистые	0	81	Тяжёлая
4	Ж	45	ВП	Кожа/слизистые	15	37	Средняя
5	Ж	64	ЛП	Кожа	0	20	Средняя
6	Ж	56	ВП	Кожа/слизистые	0	34	Средняя
7	Ж	30	ЛП	Кожа	0	25	Средняя
8	М	38	ВП	Кожа/слизистые	0	30	Средняя
9	Ж	52	ВП	Кожа/слизистые	0	98	Тяжёлая
10	М	38	ЛП	Кожа	0	19	Средняя

Примечание. ВП — вульгарная пузырчатка; ЛП — листовидная пузырчатка; ГКС — глюкокортикоид; PDAI — индекс площади поражения при пузырчатке.

Note. ВП — pemphigus vulgaris; ЛП — pemphigus foliaceus; PDAI — pemphigus disease area index.

фиколл (плотность 1,077 г/см³) (ПанЭко, Россия) в виде интерфазного кольца. Полученные мононуклеарные клетки периферической крови помещали в криобрирки и хранили при -80°C до дальнейшей обработки.

МикроРНК из мононуклеарных клеток выделяли с использованием набора для выделения суммарной РНК и микроРНК из реагента «Лира» (Биолабмикс, Россия) согласно методике производителя. Комплементарную ДНК (кДНК) получали на основе технологии StemLoop с использованием набора для обратной транскрипции «OT-1» (Синтол, Россия). Реакцию проводили отдельно для miRNA-338-3p и U6 (малая ядерная РНК) с использованием подобранных и синтезированных специфичных RT-праймеров (Синтол, Россия) (табл. 3). Реакционная смесь содержала по 10 мкл 2,5 X Реакционной смеси, 1 мкл специфического праймера для обратной транскрипции, 1 мкл фермента MMLV, 3 мкл воды, свободной от нуклеаз, и 10 мкл раствора РНК. Реакцию проводили по программе: 37°C — 30 минут, 95°C — 5 минут с последующим охлаждением смеси.

Исследование экспрессии miRNA-338-3p проводили для каждого исследуемого образца триплетами с помощью ПЦР-РВ с использованием набора «2,5x Реакционная смесь для проведения ПЦР-РВ в присутствии красителя SYBR Green I» (Синтол, Россия) в конечном объёме 25 мкл. В ходе проводимых ПЦР-РВ с образцами пациентов экспериментально установлено, что оптимальными для получения пиков плавления и кривых плавления на уровне не менее 1000 относительных единиц флуоресценции в ПЦР-РВ для подобранных последовательностей прямых и обратных праймеров (см. табл. 3), а также исследуемой кДНК служит разведение кДНК и синтезированных праймеров в 5 раз. Конечная смесь для ПЦР в расчёте на одну пробирку объёмом 25 мкл содержала 10 мкл 2,5x Реакционной смеси + SYBR Green I; 1 мкл смеси праймеров по 10 пмоль/мкл прямого и обратного в 5-кратном разведении; 0,5 мкл MgCl₂ 25 мМ; 1 мкл исследуемой кДНК в 5-кратном разведении; 12,5 мкл dd H₂O. Программа амплификации была следующей: 10 минут при 95°C; далее по 30 секунд 40 циклов при 95°C, 20 секунд при 60°C,

1 минута при 72°C; затем 1 цикл 5 минут при 95°C. Амплификация проводилась на приборе Bio-Rad iCycler iQ5 (Bio-Rad Laboratories, Inc., США).

Оценка уровня экспрессии miRNA-338-3p основывалась на её сравнении с экспрессией малой ядерной РНК U6, которая использовалась в качестве контроля благодаря стабильности уровня экспрессии. Интенсивность сигнала выражалась в относительных единицах флуоресценции. Для каждого образца были построены две кривые накопления флуоресцентного сигнала — miRNA-338-3p и U6. Результатом ПЦР-РВ являлось значение порогового цикла (cycle threshold, Ct) — число циклов, необходимых для пересечения флуоресцентным сигналом порога (фонового уровня), поскольку уровень Ct обратно пропорционален количеству целевой нуклеиновой кислоты в образце (чем ниже уровень Ct, тем выше количество нуклеиновой кислоты-мишени в образце).

Этическая экспертиза

Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (протокол № 02-23 от 26.01.2023).

Статистический анализ

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакетов прикладных программ Microsoft Excel, GraphPad Prism 10.1.1, а также Jamovi 2.3.28. Расчёт относительного уровня экспрессии miR-338-3p проводили по стандартной методике $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [39].

Для оценки нормальности распределения в группах использовали критерий Шапиро–Уилка, для оценки однородности генеральной совокупности — тест однородности дисперсии Левена. Для обнаружения различий между группами использовали апостериорный тест Геймса–Хауэлла. Достоверность различий средних значений уровней экспрессии в трёх группах оценивали при помощи t-теста Стьюдента для независимых выборок. Корреляционный анализ проводили при помощи коэффициента корреляции Спирмена и Пирсона.

Таблица 3. Нуклеотидные последовательности праймеров

Table 3. Primer nucleotide sequences

Праймер Primer	Нуклеотидная последовательность Nucleotide sequence
<i>Праймеры для обратной транскрипции Reverse transcription primers</i>	
RT-oligo-miR-338-3p	5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTGCGACTGGATACGACAGGTCG-3'
RT-oligo-U6	5'-GTCGTGTCTGAGGCTGACTGAGACCTATTCGCACCTGACACGACGGCCATGC-3'
<i>Амплификационные праймеры Amplification primers</i>	
Forward-miR-338-3p	5'-TACGTTGTTTTAGTACTACGACCT-3'
Reverse-miR-338-3p	5'-GTGCAGGGTCCGAGGTATTC-3'
Forward-U6	5'-GGCCGCATACAGAGAAGATTA-3'
Reverse-U6	5'-CTGAGGCTGACTGAGACCT-3'

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объекты (участники) исследования

В исследование включены 10 пациентов в активной стадии заболевания: 6 (60%) с диагнозом вульгарной пузырчатки и 4 (40%) с диагнозом листовидной пузырчатки. У 7/10 (70%) пациентов диагностирована средняя степень тяжести по индексу PDAI, у 3 (30%) — тяжёлая степень. У 9 (90%) пациентов отбор материала для исследования производился до начала патогенетической терапии системными глюкокортикоидами; 1 (10%) пациент получал терапию глюкокортикоидами в дозе 15 мг. В группу входили 5 (50%) мужчин и 5 (50%) женщин, что соответствует соотношению 1:1; средний возраст составил $46 \pm 10,7$ года. Подробные характеристики указаны в табл. 2.

В группу пациентов в стадии ремиссии вошло 3 человека: 2 (66,7%) женщины и 1 (33,3%) мужчина, средний возраст 57 ± 8 лет. У всех трёх пациентов поддерживающая доза глюкокортикоидов составляла 10 мг.

В группу контроля были включены 9 условно здоровых добровольцев: 8 (88,9%) женщин и 1 (11,1%) мужчина; средний возраст $36 \pm 16,8$ года.

Основные результаты исследования

Результаты экспрессии miR-338-3p в мононуклеарных клетках пациентов в активной стадии заболевания, пациентов в ремиссии, а также условно здоровых добровольцев представлены в табл. 4–6.

Средний уровень экспрессии miR-338-3p в группе пациентов в активной стадии заболевания составил $8,64 (SD \pm 5,72)$, в группе пациентов в стадии ремиссии — $3,38 (SD \pm 1,44)$, в группе контроля — $1,48 (SD \pm 1,12)$ (рис. 1). Во всех трёх группах наблюдалось нормальное распределение согласно тесту Шапиро–Уилка: $p=0,27$; $p=0,98$ и $p=0,58$ соответственно. На основе теста однородности дисперсии Левена и апостериорного теста Геймса–Хауэлла обнаружена разница средних уровней экспрессии между группой пациентов в активной стадии заболевания и группой контроля ($p=0,008$). Выявлено статистически значимое повышение уровня экспрессии miR-338-3p у пациентов в активной стадии заболевания по сравнению с группой условно здоровых добровольцев ($p=0,002$, размер эффекта 1,69) (см. рис. 1).

При корреляционном анализе с использованием коэффициента корреляции Спирмена и Пирсона установлена статистически значимая связь между уровнем экспрессии

Таблица 4. Относительный уровень экспрессии miR-338-3p в мононуклеарных клетках периферической крови пациентов с аутоиммунной пузырчаткой в активной стадии заболевания

Table 4. Relative expression levels of miR-338-3p in peripheral blood mononuclear cells of patients with active pemphigus

Номер пациента Patient number	miR-338-3p Ct	U6 Ct	ΔCt	ΔΔCt	2 ^{-ΔΔCt}
1	8,13	18,65	-10,52	-3,28	9,710
2	10,52	20,36	-9,84	-2,60	6,047
3	9,82	21,05	-11,24	-3,99	15,902
4	12,49	20,88	-8,40	-1,15	2,221
5	9,67	18,9	-9,23	-1,99	3,962
6	10,04	20,25	-10,22	-2,97	7,841
7	11,77	22,63	-10,86	-3,61	12,219
8	11,92	21,41	-9,49	-2,25	4,744
9	7,84	19,38	-11,54	-4,30	19,645
10	11,56	20,83	-9,27	-2,03	4,073
Среднее значение Mean					8,636

Таблица 5. Относительный уровень экспрессии miR-338-3p в мононуклеарных клетках периферической крови пациентов с аутоиммунной пузырчаткой в стойкой ремиссии

Table 5. Relative expression levels of miR-338-3p in peripheral blood mononuclear cells of patients with pemphigus in remission

Номер пациента Patient number	miR-338-3p Ct	U6 Ct	ΔCt	ΔΔCt	2 ^{-ΔΔCt}
1	13,85	22,05	-8,20	-0,96	1,945
2	12,03	21,0	-9,00	-1,75	3,366
3	13,47	23,0	-9,52	-2,27	4,827
Среднее значение Mean					3,379

Таблица 6. Относительный уровень экспрессии miR-338-3p в мононуклеарных клетках периферической крови условно здоровых добровольцев

Table 6. Relative expression levels of miR-338-3p in peripheral blood mononuclear cells of control group of healthy volunteers

Номер пациента Patient number	miR-338-3p Ct	U6 Ct	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
1	24,02	30,6	-6,54	0,71	0,612
2	24,62	31,2	-6,63	0,62	0,651
3	25,78	29,4	-3,61	3,63	0,081
4	22,50	30,6	-8,06	-0,81	1,755
5	17,39	26,5	-9,10	-1,86	3,620
6	19,93	28,5	-8,55	-1,31	2,473
7	18,65	26,4	-7,73	-0,48	1,396
8	19,15	25,9	-6,73	0,52	0,698
9	22,84	31,1	-8,27	-1,03	2,037
Среднее значение Mean					1,480

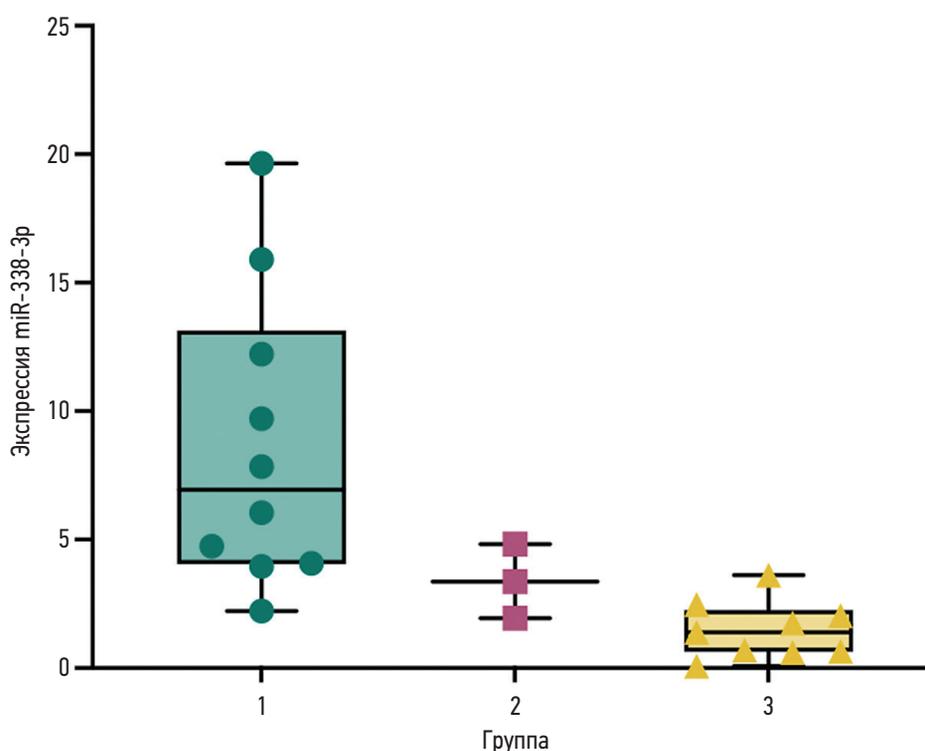


Рис. 1. Средний уровень экспрессии miR-338-3p. Группы: 1 — пациенты в активной стадии заболевания; 2 — пациенты в стойкой ремиссии; 3 — контроль (группа условно здоровых добровольцев).

Fig. 1. Mean expression level of miR-338-3p. Groups: 1 — patients with active stage of the disease; 2 — patients in remission; 3 — control group of healthy volunteers.

miR-338-3p и величиной индекса PDAI (Спирмен: $r=0,624$, $p=0,030$; Пирсон: $r=0,834$; $p < 0,001$) (рис. 2).

Достоверного различия уровня экспрессии miR-338-3p между группой пациентов в стадии ремиссии и группой пациентов в активной стадии заболевания не выявлено ($p=0,153$, размер эффекта 1,01), однако наблюдалось различие между группой пациентов в стадии ремиссии и группой контроля ($p=0,038$, размер эффекта 1,60). Отсутствие различий между группой пациентов в стадии

ремиссии и группой пациентов в активной стадии заболевания может быть обусловлено сильной неравномерностью двух данных выборок, а также малой выборкой пациентов в стадии ремиссии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Аутоиммунная пузырчатка — группа тяжёлых, прогрессирующих дерматозов. При отсутствии своевременной

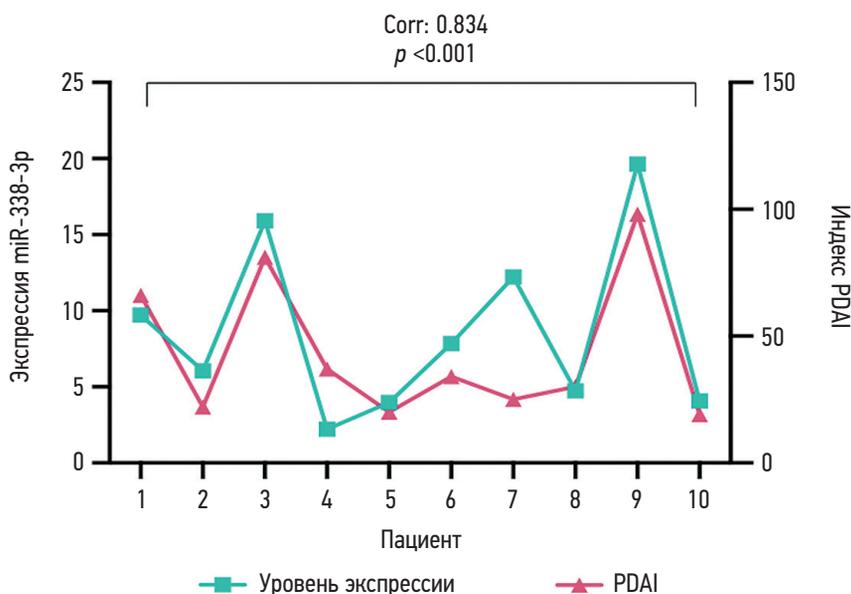


Рис. 2. Связь между уровнем экспрессии miR-338-3p и величиной индекса PDAI.
Fig. 2. Correlation between miR-338-3p expression level and PDAI index score.

патогенетической терапии исход заболевания может быть летальным. В настоящее время диагностика аутоиммунной пузырчатки преимущественно основывается на оценке совокупности клинических проявлений, гистологической картины, результатах ИФА (ELISA), прямой/непрямой РИФ, а золотым стандартом являются исследование биоптата с помощью прямой РИФ с визуализацией межклеточного отложения иммуноглобулина G (immunoglobulin G, IgG) и/или регулятора системы комплемента C3 в эпидермисе, а также патоморфологическое исследование биоптата кожи на границе пузыря и видимо неизменённой кожи [15]. Однако часто данные методы из-за отсутствия соответствующей лабораторной оснащённости и высокой стоимости оказываются недоступными в клинической практике. Так, патоморфология и прямая РИФ достаточно трудоёмки и требуют значительных временных затрат, что при этом не исключает ложноотрицательных результатов [40].

Метод ИФА (ELISA) приобрёл широкое распространение и значение в диагностике аутоиммунной пузырчатки благодаря высокой чувствительности и специфичности, однако и здесь возможны как ложноотрицательные [41], так и ложноположительные результаты [42]. Кроме того, в одном из исследований, сообщалось о наличии положительных анти-Dsg-3 антител среди здоровой популяции жителей Египта [43]. Недавним открытием в диагностике пузырчатки стал метод непрямой РИФ с помощью тест-системы BIOCHIP (Dermatology Mosaic 7, EuroImmun, Lubeck, Германия), которая отличается упрощённым протоколом использования и более низкой стоимостью по сравнению с методом ИФА, а также высокой чувствительностью и специфичностью [44]. Однако технология BIOCHIP не получила широкого распространения и требует

валидации на основе исследований с бóльшим объёмом выборки [45].

Таким образом, современные методы диагностики позволяют поставить правильный диагноз в большинстве случаев, однако частота постановки ошибочного диагноза остаётся высокой, что в результате приводит к быстрому прогрессированию заболевания и развитию тяжёлых осложнений в связи с откладыванием начала терапии, поэтому по-прежнему актуальной остаётся проблема поиска новых диагностических методов аутоиммунной пузырчатки.

Одним из новых направлений современных исследований по поиску новых биомаркеров являются микроРНК [19]. МикроРНК доказано стабильны *in vivo*, поскольку устойчивы к воздействию РНКаз, циклам замораживания/оттаивания и значительным колебаниям pH [46], а также к длительной инкубации при комнатной температуре [47, 48]. Кроме того, малый размер микроРНК, по сравнению с ДНК и целевыми мРНК, делает их более стабильными и, следовательно, менее подверженными деградации [46].

Несмотря на существование различных вариаций технологии ПЦР, наиболее используемым методом и золотым стандартом остаётся метод количественной ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ) благодаря высокой чувствительности, специфичности, доступности и воспроизводимости [38].

Если рассматривать исследования, посвящённые изучению экспрессии микроРНК в контексте аутоиммунной пузырчатки, на сегодняшний день не существует единого подхода к выбору субстратов, протоколов выделения и оценки экспрессии, отсутствует консенсус и в отношении диагностически значимых для заболевания микроРНК

(см. табл. 1). Так, например, в исследовании W. He и соавт. [30] на основании изучения экспрессии микроРНК в плазме пациентов с аутоиммунной пузырчаткой выявили повышенную экспрессию 12 микроРНК, при этом чувствительность и специфичность экспрессии miR-584-5p и miR-155-5p для диагностики составила, по данным исследования, 95,5 и 100% соответственно. В рамках исследования установлена также выраженная корреляция между уровнем экспрессии miR-326 и степенью тяжести пузырчатки. При этом в исследовании N. Lin и соавт. [32], в котором основное внимание уделялось miR-338-3p, продемонстрировано, что уровень экспрессии miR-338-3p при аутоиммунной пузырчатке не только был повышен, но и постепенно снижался в процессе эффективной терапии, хотя в исследовании W. He и соавт. [30] miR-338-3p была выведена из эксперимента как микроРНК с низкой экспрессией. В недавнем исследовании A. Valentino и соавт. [28] впервые сообщалось о понижении экспрессии микроРНК при аутоиммунной пузырчатке, в частности miR-148a-3p.

Несмотря на продолжающиеся исследования в различных медицинских областях по поиску роли микроРНК в патологических процессах, в патогенезе многих заболеваний они остаются недостаточно изученными в силу того, что микроРНК является относительно молодой областью науки. Однако выявление микроРНК, специфичных для конкретного заболевания, и учёт их роли в стратегии диагностики, прогноза и лечения открывают всё большие перспективы для современной медицины. Несмотря на то, что при буллёзных дерматозах в целом [49] и при аутоиммунной пузырчатке в частности (см. табл. 1) исследовано большое число микроРНК в различных субстратах, по экспериментальным данным, только miR-338-3p может считаться на сегодняшний день специфичной для данного заболевания.

По современным данным, патогенез аутоиммунной пузырчатки заключается в образовании аутоантител к Dsg3 и/или Dsg1, что приводит к акантолизу кератиноцитов, однако молекулярный механизм, лежащий в основе выработки аутоантител и регуляции гуморального ответа, до конца не определён [2, 50–52]. В исследовании N. Lin и соавт. [32] высказана гипотеза, что дисбаланс Th1/Th2-клеток при аутоиммунной пузырчатке может быть результатом сверхэкспрессии miR-338-3p, которая посредством трансфекции может снижать экспрессию мРНК *RNF114*, которая в свою очередь, согласно исследованиям, участвует в регуляции апоптоза и активации Т-клеток [53, 54]. При этом взаимодействие miR-338-3p и мРНК *RNF114 in vitro* было подтверждено с помощью люциферазного репортерного анализа [32]. В другом исследовании [33] выдвинута гипотеза, что ещё одним геном-мишенью для miR-338-3p является *TRADD*, который также участвует в апоптозе, поскольку в исследованиях как *in vitro*, так и *in vivo* уровень мРНК *TRADD* понижался при сверхэкспрессии miR-338-3p.

Таким образом, miR-338-3p может участвовать непосредственно в патогенезе заболевания, что стало решающим фактором при выборе микроРНК для данного исследования, поскольку в других работах гипотезы участия микроРНК в патогенезе заболевания и влияния на гены-мишени были предсказаны только с помощью компьютерных моделей и баз данных TargetScan, MiRanda, MiRTarBase и пр. [28, 30].

Настоящее исследование продемонстрировало значительное отличие уровня экспрессии miR-338-3p в группе пациентов в активной стадии заболевания по сравнению с группой контроля. Уровень экспрессии miR-338-3p коррелировал также с тяжестью заболевания, оценённой по индексу PDAI. Полученные данные не противоречат результатам литературных источников. Так, в исследовании N. Lin и соавт. [32] также установлена повышенная экспрессия miR-338-3p, однако в исследование входили только пациенты с вульгарной пузырчаткой. На основании проведённых литературных поисков можно сделать вывод, что данная работа является первым в русскоязычных источниках исследованием по изучению экспрессии микроРНК при аутоиммунной пузырчатке. Авторским коллективом была разработана технология выделения и оценки уровня экспрессии микроРНК miR-338-3p, при этом протокол (выделение микроРНК, получение кДНК, проведение ПЦР-РВ) основан на использовании реактивов российского производства, что в дальнейшем может сделать его более доступным в клинической практике.

Резюме основного результата исследования

В исследовании установлено, что средний уровень экспрессии miR-338-3p у пациентов в активной стадии заболевания значительно выше, чем в группе контроля, различия между группами статистически значимы ($p=0,002$). Выявлена корреляция между уровнем экспрессии miR-338-3p и индексом PDAI ($p < 0,001$). Разработана технология выделения и оценки уровня экспрессии miR-338-3p методом ПЦР-РВ.

Ограничения исследования

Ограничением нашего исследования стала малая выборка пациентов, поэтому запланировано более обширное исследование с увеличенной выборкой, чтобы подтвердить предварительные результаты, а также установить референсные интервалы уровня экспрессии miR-338-3p для разработки нового метода диагностики и объективной оценки степени тяжести аутоиммунной пузырчатки. Запланировано также исследование экспрессии miR-338-3p у пациентов в процессе лечения.

Другим ограничением нашего исследования стал выбор одной изучаемой микроРНК. Планируется выявить корреляции уровня экспрессии miR-338-3p с другими ранее исследованными, по данным литературы, микроРНК и лабораторными показателями, поскольку построение дополнительных соотношений может стать

основой для создания более точных и специфичных для заболевания моделей, которые в последующем могут быть реализованы в виде системы принятия врачебных решений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Аутоиммунная пузырчатка — группа редких и потенциально смертельных хронических дерматозов. В настоящее время проводится всё больше исследований с целью поиска методов контроля активности заболевания с помощью различных биомаркеров, которые могут быть использованы для мониторинга прогрессирования заболевания и прогноза лекарственного ответа, что позволит оптимизировать выбор персонализированной терапии и избежать тяжёлых осложнений. На основании результатов нашего исследования и сопоставления полученных результатов с данными из различных литературных источников можно сделать вывод о значимости микроРНК в контексте аутоиммунной пузырчатки, а экспрессия miR-338-3p, в частности, может служить ключевым элементом в патогенезе этого заболевания.

Более детальное изучение микроРНК у пациентов с аутоиммунной пузырчаткой, включая большую выборку пациентов и анализ вариабельности экспрессии в зависимости от степени тяжести заболевания и дозировки принимаемых глюкокортикоидов, могут стать основой для создания новых диагностических методов, а также методов объективной оценки степени тяжести заболевания, что позволит применять более точные и менее инвазивные методы диагностики, а также контролировать и прогнозировать течение заболевания.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при подготовке статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Олисова О.Ю., Теплюк Н.П. Иллюстрированное руководство по дерматологии для подготовки врачей к аккредитации. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2023. 376 с.
2. Махнева В.М., Теплюк Н.П., Белецкая Л.В. Аутоиммунная пузырчатка: от истоков развития до наших дней. Москва: Изд. Решения, 2016. 308 с.
3. Joly P., Litrowski N. Pemphigus group (vulgaris, vegetans, foliaceus, herpetiformis, brasiliensis) // *Clin Dermatol*. 2011. Vol. 29, N 4. P. 432–436. doi: 10.1016/j.clindermatol.2011.01.013
4. Amagai M., Tanikawa A., Shimizu T., et al.; Committee for Guidelines for the Management of Pemphigus Disease. Japanese guidelines for the management of pemphigus // *J Dermatol*. 2014. Vol. 41, N 6. P. 471–486. doi: 10.1111/1346-8138.12486
5. Kridin K. Pemphigus group: Overview, epidemiology, mortality, and comorbidities // *Immunol Res*. 2018. Vol. 66, N 2. P. 255–270. EDN: MQQLDI doi: 10.1007/s12026-018-8986-7
6. Shamim T., Varghese V.I., Shameena P.M., Sudha S. Pemphigus vulgaris in oral cavity: Clinical analysis of 71 cases // *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2008. Vol. 13, N 10. P. E622–E626.
7. Pollmann R., Schmidt T., Eming R., Hertl M. Pemphigus: A comprehensive review on pathogenesis, clinical presentation and novel therapeutic approaches // *Clin Rev Allergy Immunol*. 2018. Vol. 54, N 1. P. 1–25. EDN: YEXVDV doi: 10.1007/s12016-017-8662-z
8. Gonçalves G.A., Brito M.M., Salathiel A.M., et al. Incidence of pemphigus vulgaris exceeds that of pemphigus foliaceus in a region where pemphigus foliaceus is endemic: Analysis of a 21-year historical series // *An Bras Dermatol*. 2011. Vol. 86, N 6. P. 1109–1112. doi: 10.1590/s0365-05962011000600007
9. Harel-Raviv M., Srolovitz H., Gornitsky M. Pemphigus vulgaris: The potential for error. A case report // *Spec Care Dentist*. 1995. Vol. 15, N 2. P. 61–64. doi: 10.1111/j.1754-4505.1995.tb00478.x 20

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: Н.П. Теплюк — концепция исследования, внесение в рукопись существенных правок с целью повышения научной ценности статьи; Д.В. Мак — сбор и анализ литературных источников, постановка проб ПЦР-РВ на микроРНК, анализ полученных данных, интерпретация результатов, подготовка и написание текста статьи; Ю.В. Колесова — сбор и анализ литературных источников, подготовка и написание текста статьи; А.А. Лепехова, Т.А. Федотчева, Д.Н. Ульченко — редактирование статьи.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work. N.P. Teplyuk — research concept, making significant edits to the manuscript in order to increase the scientific value of the article; D.V. Mak — collection and processing of materials, setting samples for qRT-PCR for microRNA detection, analysis of the data obtained, results interpretation, writing the manuscript; Yu.V. Kolesova — collection and processing of materials, analysis of the received data, writing the manuscript; A.A. Lepekhova, T.A. Fedotcheva, D.N. Ulchenko — editing the article.

10. Morishima-Koyano M., Nobeyama Y., Fukasawa-Momose M., et al. Case of pemphigus foliaceus misdiagnosed as a single condition of erythrodermic psoriasis and modified by brodalumab // *J Dermatol*. 2020. Vol. 47, N 5. P. e201–e202. doi: 10.1111/1346-8138.15295
11. Daltaban Ö., Özçentik A., Karakaş A., et al. Clinical presentation and diagnostic delay in pemphigus vulgaris: A prospective study from Turkey // *J Oral Pathol Med*. 2020. Vol. 49, N 7. P. 681–686. doi: 10.1111/jop.13052
12. Хамаганова И.В., Маляренко Е.Н., Денисова Е.В., и др. Ошибка в диагностике вульгарной пузырчатки: клинический случай // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. 2017. Т. 20, № 1. С. 30–33. EDN: YGTAJL doi: 10.18821/1560-9588-2017-20-1-30-33
13. Петрова С.Ю., Бержец В.М., Радикова О.В. Трудности дифференциальной диагностики пузырных дерматозов. Эритематозная пузырчатка: случай из клинической практики // *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2017. № 4. С. 31–36. EDN: YWEQBI doi: 10.14427/jipai.2017.4.31
14. Petrucci M., Vella F., Squicciarini N., et al. Diagnostic delay in autoimmune oral diseases // *Oral Dis*. 2023. Vol. 29, N 7. P. 2614–2623. EDN: ZIUCAV doi: 10.1111/odi.14480
15. Теплюк Н.П., Колесова Ю.В., Мак Д.В., и др. Аутоиммунная пузырчатка: новые подходы к диагностике и оценке тяжести заболевания // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. 2023. Т. 26, № 5. С. 515–526. EDN: MSAHYT doi: 10.17816/dv492306
16. Saha M., Bhogal B., Black M.M., et al. Prognostic factors in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus // *Br J Dermatol*. 2014. Vol. 170, N 1. P. 116–122. doi: 10.1111/bjd.12630
17. Delavarian Z., Layegh P., Pakfetrat A., et al. Evaluation of desmoglein 1 and 3 autoantibodies in pemphigus vulgaris: Correlation with disease severity // *J Clin Exp Dentistry*. 2020. Vol. 12, N 5. P. e440–e445. doi: 10.4317/jced.56289
18. Russo I., De Siena F.P., Saponeri A., Alaibac M. Evaluation of anti-desmoglein-1 and anti-desmoglein-3 autoantibody titers in pemphigus patients at the time of the initial diagnosis and after clinical remission // *Medicine*. 2017. Vol. 96, N 46. P. e8801. doi: 10.1097/MD.00000000000008801
19. Condrat C.E., Thompson D.C., Barbu M.G., et al. MiRNAs as biomarkers in disease: Latest findings regarding their role in diagnosis and prognosis // *Cells*. 2020. Vol. 9, N 2. P. 276. EDN: OAGKOW doi: 10.3390/cells9020276
20. O'Brien J., Hayder H., Zayed Y., Peng C. Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation // *Front Endocrinol*. 2018. Vol. 9. P. 402. EDN: HCLKYH doi: 10.3389/fendo.2018.00402
21. Shu J., Silva B.V., Gao T., et al. Dynamic and modularized microRNA regulation and its implication in human cancers // *Sci Rep*. 2017. Vol. 7, N 1. P. 13356. EDN: YKCIgn doi: 10.1038/s41598-017-13470-5
22. Kozomara A., Griffiths-Jones S. MiRBase: Annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data // *Nucleic Acids Res*. 2014. Vol. 42. P. D68–73.
23. Treiber T., Treiber N., Meister G. Regulation of microRNA biogenesis and its crosstalk with other cellular pathways: Nature reviews // *Mol Cell Biol*. 2019. Vol. 20, N 1. P. 5–20. doi: 10.1038/s41580-018-0059-1
24. Long H., Wang X., Chen Y., et al. Dysregulation of microRNAs in autoimmune diseases: Pathogenesis, biomarkers and potential therapeutic targets // *Cancer Letters*. 2018. Vol. 428. P. 90–103. EDN: YGWIVF doi: 10.1016/j.canlet.2018.04.016
25. Dai R., Ahmed S.A. MicroRNA, a new paradigm for understanding immunoregulation, inflammation, and autoimmune diseases. Translational research // *J Lab Clin Med*. 2011. Vol. 157, N 4. P. 163–179. doi: 10.1016/j.trsl.2011.01.007
26. Wang Z., Lu Q., Wang Z. Epigenetic alterations in cellular immunity: New insights into autoimmune diseases // *Cell Physiol Biochem*. 2017. Vol. 41, N 2. P. 645–660. EDN: YFIBLS doi: 10.1159/000457944
27. Weiland M., Gao X.H., Zhou L., Mi Q.S. Small RNAs have a large impact: Circulating microRNAs as biomarkers for human diseases // *RNA Biol*. 2012. Vol. 9, N 6. P. 850–859. doi: 10.4161/rna.20378
28. Valentino A., Leuci S., Galderisi U., et al. Plasma exosomal microRNA profile reveals miRNA 148a-3p downregulation in the mucosal-dominant variant of pemphigus vulgaris // *Int J Mol Sci*. 2023. Vol. 24, N 14. P. 11493. EDN: FABUJS doi: 10.3390/ijms241411493
29. Khabou B., Fakhfakh R., Tahri S., et al. MiRNA implication in the pathogenesis and the outcome of Tunisian endemic pemphigus foliaceus // *Exp Dermatol*. 2023. Vol. 32, N 7. P. 1132–1142. doi: 10.1111/exd.14821
30. He W., Xing Y., Li C., et al. Identification of six microRNAs as potential biomarkers for pemphigus vulgaris: From diagnosis to pathogenesis // *Diagnostics (Basel, Switzerland)*. 2022. Vol. 12, N 12. P. 3058. EDN: ZZLOOJ doi: 10.3390/diagnostics12123058
31. Xu M., Liu Q., Li S., et al. Increased expression of miR-338-3p impairs Treg-mediated immunosuppression in pemphigus vulgaris by targeting RUNX1 // *Exp Dermatol*. 2020. Vol. 29, N 7. P. 623–629. doi: 10.1111/exd.14111
32. Lin N., Liu Q., Wang M., et al. Usefulness of miRNA-338-3p in the diagnosis of pemphigus and its correlation with disease severity // *Peer J*. 2018. Vol. 6. P. e5388. doi: 10.7717/peerj.5388
33. Liu Q., Cui F., Wang M., et al. Increased expression of microRNA-338-3p contributes to production of Dsg3 antibody in pemphigus vulgaris patients // *Mol Med Rep*. 2018. Vol. 18, N 1. P. 550–556. EDN: VFMILM doi: 10.3892/mmr.2018.8934
34. Wang M., Liang L., Li L., et al. Increased miR-424-5p expression in peripheral blood mononuclear cells from patients with pemphigus // *Mol Med Rep*. 2017. Vol. 15, N 6. P. 3479–3484. doi: 10.3892/mmr.2017.6422
35. Satyam A., Khandpur S., Sharma V.K., Sharma A. Involvement of T(h)1/T(h)2 cytokines in the pathogenesis of autoimmune skin disease: Pemphigus vulgaris // *Immunol Invest*. 2009. Vol. 38, N 6. P. 498–509. doi: 10.1080/08820130902943097
36. Lee S.H., Hong W.J., Kim S.C. Analysis of serum cytokine profile in pemphigus // *Ann Dermatol*. 2017. Vol. 29, N 4. P. 438–445. doi: 10.5021/ad.2017.29.4.438
37. Rizzo C., Fotino M., Zhang Y., et al. Direct characterization of human T cells in pemphigus vulgaris reveals elevated autoantigen-specific Th2 activity in association with active disease // *Clin Experimental Dermatol*. 2005. Vol. 30, N 5. P. 535–540. doi: 10.1111/j.1365-2230.2005.01836.x
38. Pritchard C.C., Cheng H.H., Tewari M. MicroRNA profiling: Approaches and considerations // *Nature Rev Genetics*. 2012. Vol. 13, N 5. P. 358–369. doi: 10.1038/nrg3198
39. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) method // *Methods*. 2001. Vol. 25, N 4. P. 402–408. doi: 10.1006/meth.2001.1262
40. Buch A.C., Kuma H., Panicker N., et al. A cross-sectional study of direct immunofluorescence in the diagnosis of immunobullous dermatoses // *Indian J Dermatol*. 2014. Vol. 59, N 4. P. 364–368. doi: 10.4103/0019-5154.135488

41. Belloni-Fortina A., Faggion D., Pigozzi B., et al. Detection of autoantibodies against recombinant desmoglein 1 and 3 molecules in patients with pemphigus vulgaris: Correlation with disease extent at the time of diagnosis and during follow-up // *Clin Dev Immunol*. 2009. Vol. 2009. P. 187864. doi: 10.1155/2009/187864
42. Giurdanella F., Nijenhuis A.M., Diercks G.F., et al. Keratinocyte binding assay identifies anti-desmosomal pemphigus antibodies where other tests are negative// *Front Immunol*. 2018. Vol. 9. P. 839. doi: 10.3389/fimmu.2018.00839
43. Saleh M.A., El-Bahy M.M. Do normal Egyptians possess anti-desmoglein 3 antibodies? // *Int J Dermatol*. 2015. Vol. 54, N 10. P. 1145–1149. doi: 10.1111/ijd.12662
44. Xuan R.R., Yang A., Murrell D.F. New biochip immunofluorescence test for the serological diagnosis of pemphigus vulgaris and foliaceus: A review of the literature// *Int J Women's Dermatol*. 2018. Vol. 4, N 2. P. 102–108. doi: 10.1016/j.ijwd.2017.10.001
45. Yang A., Xuan R., Melbourne W., et al. Validation of the BIOCHIP test for the diagnosis of bullous pemphigoid, pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus // *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020. Vol. 34, N 1. P. 153–160. doi: 10.1111/jdv.15770
46. Sanz-Rubio D., Martin-Burriel I., Gil A., et al. Stability of circulating exosomal miRNAs in healthy subjects // *Sci Rep*. 2018. Vol. 8, N 1. P. 10306. EDN: VHZDCQ doi: 10.1038/s41598-018-28748-5
47. Matias-Garcia P.R., Wilson R., Mussack V., et al. Impact of long-term storage and freeze-thawing on eight circulating microRNAs in plasma samples // *PLoS One*. 2020. Vol. 15, N 1. P. e0227648. doi: 10.1371/journal.pone.0227648
48. Ward Gahlawat A., Lenhardt J., Witte T., et al. Evaluation of storage tubes for combined analysis of circulating nucleic acids in liquid biopsies // *Int J Mol Sci*. 2019. Vol. 20, N 3. P. 704. doi: 10.3390/ijms20030704
49. Papara C., Zillikens D., Sadik C.D., Baican A. MicroRNAs in pemphigus and pemphigoid diseases // *Autoimmunity Rev*. 2021. Vol. 20, N 7. P. 102852. EDN: BWVCMC doi: 10.1016/j.autrev.2021.102852
50. Ramani P., Ravikumar R., Pandiar D., et al. Apoptolysis: A less understood concept in the pathogenesis of pemphigus vulgaris // *Apoptosis*. 2022. Vol. 27, N 5–6. P. 322–328. EDN: FRNMYI doi: 10.1007/s10495-022-01726-z
51. Lee A.Y., Kim T., Kim J.H. Understanding CD4+ T cells in autoimmune bullous diseases // *Front Immunol*. 2023. Vol. 14. P. 1161927. EDN: XEJLJM doi: 10.3389/fimmu.2023.1161927
52. Araghi F., Dadkhahfar S., Robati R.M., et al. The emerging role of T cells in pemphigus vulgaris: A systematic review // *Clin Exp Med*. 2023. Vol. 23, N 4. P. 1045–1054. EDN: AXVIWX doi: 10.1007/s10238-022-00855-8
53. Rodriguez M.S., Egaña I., Lopitz-Otsoa F., et al. The RING ubiquitin E3 RNF114 interacts with A20 and modulates NF- κ B activity and T-cell activation // *Cell Death Dis*. 2014. Vol. 5, N 8. P. e1399. doi: 10.1038/cddis.2014.366
54. Yang P., Lu Y., Li M., et al. Identification of RNF114 as a novel positive regulatory protein for T cell activation // *Immunobiol*. 2014. Vol. 219, N 6. P. 432–439. EDN: SQZAYB doi: 10.1016/j.imbio.2014.02.002

REFERENCES

1. Olisova OY, Teplyuk NP. *Illustrated guide to dermatology for preparation of doctors for accreditation*. Moscow: GEOTAR-Media; 2023. 376 p. (In Russ).
2. Makhneva VM, Teplyuk NP, Beletskaya LV. Autoimmune vesicle: From the origins of development to our days. Moscow: Resheniya; 2016. 308 p. (In Russ).
3. Joly P, Litrowski N. Pemphigus group (vulgaris, vegetans, foliaceus, herpetiformis, brasiliensis). *Clin Dermatol*. 2011;29(4):432–436. doi: 10.1016/j.clindermatol.2011.01.013
4. Amagai M, Tanikawa A, Shimizu T, et al. Committee for Guidelines for the Management of Pemphigus Disease. Japanese guidelines for the management of pemphigus. *J Dermatol*. 2014;41(6):471–486. doi: 10.1111/1346-8138.12486
5. Kridin K. Pemphigus group: Overview, epidemiology, mortality, and comorbidities. *Immunol Res*. 2018;66(2):255–270. EDN: MOQLDI doi: 10.1007/s12026-018-8986-7
6. Shamim T, Varghese VI, Shameena PM, Sudha S. Pemphigus vulgaris in oral cavity: Clinical analysis of 71 cases. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2008;13(10):E622–E626.
7. Pollmann R, Schmidt T, Eming R, Hertl M. Pemphigus: A comprehensive review on pathogenesis, clinical presentation and novel therapeutic approaches. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2018;54(1):1–25. EDN: YEXVDV doi: 10.1007/s12016-017-8662-z
8. Gonçalves GA, Brito MM, Salathiel AM, et al. Incidence of pemphigus vulgaris exceeds that of pemphigus foliaceus in a region where pemphigus foliaceus is endemic: Analysis of a 21-year historical series. *An Bras Dermatol*. 2011;86(6):1109–1112. doi: 10.1590/s0365-05962011000600007
9. Harel-Raviv M, Srolovitz H, Gornitsky M. Pemphigus vulgaris: The potential for error. A case report. *Spec Care Dentist*. 1995;15(2):61–64. doi: 10.1111/j.1754-4505.1995.tb00478.x 20
10. Morishima-Koyano M, Nobeyama Y, Fukasawa-Momose M, et al. Case of pemphigus foliaceus misdiagnosed as a single condition of erythrodermic psoriasis and modified by brodalumab. *J Dermatol*. 2020;47(5):e201–e202. doi: 10.1111/1346-8138.15295
11. Daltaban Ö, Özçentik A, Karakaş A, et al. Clinical presentation and diagnostic delay in pemphigus vulgaris: A prospective study from Turkey. *J Oral Pathol Med*. 2020;49(7):681–686. doi: 10.1111/jop.13052
12. Khamaganova IV, Malyarenko EN, Denisova EV, et al. Mistakes of diagnostics in pemphigus vulgaris: Case report. *Russ J Skin Venereal Dis*. 2017; 20(1):30–33. EDN: YGTAJL doi: 10.18821/1560-9588-2017-20-1-30-33
13. Petrova SY, Berzhets VM, Radikova OV. Difficulties of differential diagnosis of blistering dermatoses. pemphigus erythematosus: A case from clinical practice. *Immunopatol allergol infectol*. 2017;(4):31–36. EDN: YWEQBI doi: 10.14427/jipai.2017.4.31
14. Petrucci M, Vella F, Squicciarini N, et al. Diagnostic delay in autoimmune oral diseases. *Oral Dis*. 2023;29(7):2614–2623. EDN: ZIUCAV doi: 10.1111/odi.14480
15. Teplyuk NP, Kolesova YV, Mak DV, et al. Pemphigus: New approaches to diagnosis and disease severity assessment. *Russ J Skin Venereal Dis*. 2023;26(5):515–526. EDN: MSAHYT doi: 10.17816/dv492306
16. Saha M, Bhogal B, Black MM, et al. Prognostic factors in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus. *Br J Dermatol*. 2014;170(1):116–122. doi: 10.1111/bjd.12630

17. Delavarian Z, Layegh P, Pakfetrat A, et al. Evaluation of desmoglein 1 and 3 autoantibodies in pemphigus vulgaris: Correlation with disease severity. *J Clin Exp Dentistry*. 2020;12(5):e440–e445. doi: 10.4317/jced.56289
18. Russo I, De Siena FP, Saponeri A, Alaibac M. Evaluation of anti-desmoglein-1 and anti-desmoglein-3 autoantibody titers in pemphigus patients at the time of the initial diagnosis and after clinical remission. *Medicine*. 2017;96(46):e8801. doi: 10.1097/MD.00000000000008801
19. Condrat CE, Thompson DC, Barbu MG, et al. MiRNAs as biomarkers in disease: Latest findings regarding their role in diagnosis and prognosis. *Cells*. 2020;9(2):276. EDN: OAGKOW doi: 10.3390/cells9020276
20. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C. Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Front Endocrinol*. 2018;9:402. EDN: HCLKYH doi: 10.3389/fendo.2018.00402
21. Shu J, Silva BV, Gao T, et al. Dynamic and modularized microRNA regulation and its implication in human cancers. *Sci Rep*. 2017;7(1):13356. EDN: YKICGN doi: 10.1038/s41598-017-13470-5
22. Kozomara A, Griffiths-Jones S. MiRBase: Annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Res*. 2014;42:D68–73.
23. Treiber T, Treiber N, Meister G. Regulation of microRNA biogenesis and its crosstalk with other cellular pathways: Nature reviews. *Mol Cell Biol*. 2019;20(1):5–20. doi: 10.1038/s41580-018-0059-1
24. Long H, Wang X, Chen Y, et al. Dysregulation of microRNAs in autoimmune diseases: Pathogenesis, biomarkers and potential therapeutic targets. *Cancer Letters*. 2018;428:90–103. EDN: YGWIVF doi: 10.1016/j.canlet.2018.04.016
25. Dai R, Ahmed SA. MicroRNA, a new paradigm for understanding immunoregulation, inflammation, and autoimmune diseases. Translational research. *J Lab Clin Med*. 2011;157(4):163–179. doi: 10.1016/j.trsl.2011.01.007
26. Wang Z, Lu Q, Wang Z. Epigenetic alterations in cellular immunity: New insights into autoimmune diseases. *Cell Physiol Biochem*. 2017;41(2):645–660. EDN: YFIBLS doi: 10.1159/000457944
27. Weiland M, Gao XH, Zhou L, Mi QS. Small RNAs have a large impact: Circulating microRNAs as biomarkers for human diseases. *RNA Biol*. 2012;9(6):850–859. doi: 10.4161/rna.20378
28. Valentino A, Leuci S, Galderisi U, et al. Plasma exosomal microRNA profile reveals miRNA 148a-3p downregulation in the mucosal-dominant variant of pemphigus vulgaris. *Int J Mol Sci*. 2023;24(14):11493. EDN: FABUJS doi: 10.3390/ijms241411493
29. Khabou B, Fakhfakh R, Tahri S, et al. MiRNA implication in the pathogenesis and the outcome of Tunisian endemic pemphigus foliaceus. *Exp Dermatol*. 2023;32(7):1132–1142. doi: 10.1111/exd.14821
30. He W, Xing Y, Li C, et al. Identification of six microRNAs as potential biomarkers for pemphigus vulgaris: From diagnosis to pathogenesis. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*. 2022;12(12):3058. EDN: ZZLOOJ doi: 10.3390/diagnostics12123058
31. Xu M, Liu Q, Li S, et al. Increased expression of miR-338-3p impairs Treg-mediated immunosuppression in pemphigus vulgaris by targeting RUNX1. *Exp Dermatol*. 2020;29(7):623–629. doi: 10.1111/exd.14111
32. Lin N, Liu Q, Wang M, et al. Usefulness of miRNA-338-3p in the diagnosis of pemphigus and its correlation with disease severity. *Peer J*. 2018;6:e5388. doi: 10.7717/peerj.5388
33. Liu Q, Cui F, Wang M, et al. Increased expression of microRNA-338-3p contributes to production of Dsg3 antibody in pemphigus vulgaris patients. *Mol Med Rep*. 2018;18(1):550–556. EDN: VFMLM doi: 10.3892/mmr.2018.8934
34. Wang M, Liang L, Li L, et al. Increased miR-424-5p expression in peripheral blood mononuclear cells from patients with pemphigus. *Mol Med Rep*. 2017;15(6):3479–3484. doi: 10.3892/mmr.2017.6422
35. Satyam A, Khandpur S, Sharma VK, Sharma A. Involvement of T(h)1/T(h)2 cytokines in the pathogenesis of autoimmune skin disease: Pemphigus vulgaris. *Immunol Invest*. 2009;38(6):498–509. doi: 10.1080/08820130902943097
36. Lee SH, Hong WJ, Kim SC. Analysis of serum cytokine profile in pemphigus. *Ann Dermatol*. 2017;29(4):438–445. doi: 10.5021/ad.2017.29.4.438
37. Rizzo C, Fotino M, Zhang Y, et al. Direct characterization of human T cells in pemphigus vulgaris reveals elevated autoantigen-specific Th2 activity in association with active disease. *Clin Experimental Dermatol*. 2005;30(5):535–540. doi: 10.1111/j.1365-2230.2005.01836.x
38. Pritchard CC, Cheng HH, Tewari M. MicroRNA profiling: Approaches and considerations. *Nature Rev Genetics*. 2012;13(5):358–369. doi: 10.1038/nrg3198
39. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) method. *Methods*. 2001;25(4):402–408. doi: 10.1006/meth.2001.1262
40. Buch AC, Kuma H, Panicker N, et al. A cross-sectional study of direct immunofluorescence in the diagnosis of immunobullous dermatoses. *Indian J Dermatol*. 2014;59(4):364–368. doi: 10.4103/0019-5154.135488
41. Belloni-Fortina A, Faggion D, Pigozzi B, et al. Detection of autoantibodies against recombinant desmoglein 1 and 3 molecules in patients with pemphigus vulgaris: Correlation with disease extent at the time of diagnosis and during follow-up. *Clin Dev Immunol*. 2009;2009:187864. doi: 10.1155/2009/187864
42. Giurdanella F, Nijenhuis AM, Diercks GF, et al. Keratinocyte binding assay identifies anti-desmosomal pemphigus antibodies where other tests are negative. *Front Immunol*. 2018;9:839. doi: 10.3389/fimmu.2018.00839
43. Saleh MA, El-Bahy MM. Do normal Egyptians possess anti-desmoglein 3 antibodies? *Int J Dermatol*. 2015;54(10):1145–1149. doi: 10.1111/ijd.12662
44. Xuan RR, Yang A, Murrell DF. New biochip immunofluorescence test for the serological diagnosis of pemphigus vulgaris and foliaceus: A review of the literature. *Int J Women's Dermatol*. 2018;4(2):102–108. doi: 10.1016/j.ijwd.2017.10.001
45. Yang A, Xuan R, Melbourne W, et al. Validation of the BIOCHIP test for the diagnosis of bullous pemphigoid, pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020;34(1):153–160. doi: 10.1111/jdv.15770
46. Sanz-Rubio D, Martin-Burriel I, Gil A, et al. Stability of circulating exosomal miRNAs in healthy subjects. *Sci Rep*. 2018;8(1):10306. EDN: VHZDCQ doi: 10.1038/s41598-018-28748-5
47. Matias-Garcia PR, Wilson R, Mussack V, et al. Impact of long-term storage and freeze-thawing on eight circulating microRNAs in plasma samples. *PLoS One*. 2020;15(1):e0227648. doi: 10.1371/journal.pone.0227648
48. Ward Gahlawat A, Lenhardt J, Witte T, et al. Evaluation of storage tubes for combined analysis of circulating nucleic acids in liquid biopsies. *Int J Mol Sci*. 2019;20(3):704. doi: 10.3390/ijms20030704

49. Papara C, Zillikens D, Sadik CD, Baican A. MicroRNAs in pemphigus and pemphigoid diseases. *Autoimmunity Rev.* 2021;20(7):102852. EDN: BWVCMC doi: 10.1016/j.autrev.2021.102852

50. Ramani P, Ravikumar R, Pandiar D, et al. Apoptolysis: A less understood concept in the pathogenesis of pemphigus vulgaris. *Apoptosis.* 2022;27(5-6):322–328. EDN: FRNMYI doi: 10.1007/s10495-022-01726-z

51. Lee AY, Kim T, Kim JH. Understanding CD4+ T cells in autoimmune bullous diseases. *Front Immunol.* 2023;14(0):1161927. EDN: XEJLJM doi: 10.3389/fimmu.2023.1161927

52. Araghi F, Dadkhahfar S, Robati RM, et al. The emerging role of T cells in pemphigus vulgaris: A systematic review. *Clin Exp Med.* 2023;23(4):1045–1054. EDN: AXVIWX doi: 10.1007/s10238-022-00855-8

53. Rodriguez MS, Egaña I, Lopitz-Otsoa F, et al. The RING ubiquitin E3 RNF114 interacts with A20 and modulates NF-κB activity and T-cell activation. *Cell Death Dis.* 2014;5(8):e1399. doi: 10.1038/cddis.2014.366

54. Yang P, Lu Y, Li M, et al. Identification of RNF114 as a novel positive regulatory protein for T cell activation. *Immunobiol.* 2014;219(6):432–439. EDN: SQZAYB doi: 10.1016/j.imbio.2014.02.002

ОБ АВТОРАХ

* Мак Дарья Витальевна;

адрес: Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2;
ORCID: 0000-0002-7020-0572;
eLibrary SPIN: 8204-4555;
e-mail: dariamak25@gmail.com

Теплюк Наталия Павловна, д-р мед. наук, профессор;

ORCID: 0000-0002-5800-4800;
eLibrary SPIN: 8013-3256;
e-mail: teplyukn@gmail.com

Колесова Юлия Владимировна;

ORCID: 0000-0002-3617-2555;
eLibrary SPIN: 1441-8730;
e-mail: kolesovamsmu@gmail.com

Лепехова Анфиса Александровна, канд. мед. наук, доцент;

ORCID: 0000-0002-4365-3090;
eLibrary SPIN: 3261-3520;
e-mail: anfisa.lepehova@yandex.ru

Федотчева Татьяна Александровна, д-р мед. наук, профессор;

ORCID: 0000-0003-4998-9991;
eLibrary SPIN: 1261-5650;
e-mail: tfedotcheva@mail.ru

Ульченко Дарья Николаевна;

ORCID: 0009-0008-1894-5746;
eLibrary SPIN: 9735-2364;
e-mail: motci@list.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

* Daria V. Mak;

address: 8-2 Trubetskaya street, 119991 Moscow, Russia;
ORCID: 0000-0002-7020-0572;
eLibrary SPIN: 8204-4555;
e-mail: dariamak25@gmail.com

Natalia P. Teplyuk, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor;

ORCID: 0000-0002-5800-4800;
eLibrary SPIN: 8013-3256;
e-mail: teplyukn@gmail.com

Yuliya V. Kolesova;

ORCID: 0000-0002-3617-2555;
eLibrary SPIN: 1441-8730;
e-mail: kolesovamsmu@gmail.com

Anfisa A. Lepekhova, MD, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor;

ORCID: 0000-0002-4365-3090;
eLibrary SPIN: 3261-3520;
e-mail: anfisa.lepehova@yandex.ru

Tatiana A. Fedotcheva, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor;

ORCID: 0000-0003-4998-9991;
eLibrary SPIN: 1261-5650;
e-mail: tfedotcheva@mail.ru

Darya N. Ulchenko;

ORCID: 0009-0008-1894-5746;
eLibrary SPIN: 9735-2364;
e-mail: motci@list.ru